Über die Verbreitung und biologische Bedeutung der Furfuroide im Boden

(I. Abhandlung)

von

Dr. **Julius Stoklasa.**

Aus dem landw.-physiologischen Laboratorium der k. k. böhm. techn. Hochschule in Prag.

Forschungen über den chemischen Charakter der im Boden enthaltenen organischen Substanzen sind bis zum heutigen Tage sehr spärlich, insbesondere gibt es fast keine Beobachtungen über deren Isolirung und die Beobachtung des Einflusses der einzelnen Verbindungen auf die Biologie der Mikroben.

Beim näheren Studium der chemisch-biologischen Processe der Mikroben im Boden findet man, welche Bedeutung hier die organischen Substanzen, namentlich die Kohlenhydrate haben, ohne deren Vorhandensein im Ackerboden die Bildung bestimmter Bacterienarten unmöglich ist, wie ich in einer zweiten Arbeit beweisen werde.

Von den im Boden vorkommenden Kohlenhydraten müssen in erster Linie die Pentosane und die Pentosen hervorgehoben werden, welche ich in der folgenden Abhandlung kurz mit dem Namen Furfuroide bezeichne.

Nachdem ich die Wichtigkeit der Bestimmung der Furfuroide im Boden erkannt hatte, habe ich mich schon im vorigen Jahre gemeinsam mit den Herren Assistenten F. W. Uher und Fr. Ducháček der Forschung der Verbreitung und biologischen Bedeutung der erwähnten Gruppe gewidmet. In erster Linie handelte es sich uns um die Aufklärung der Bildung der Pentosane im Boden, um die Isolirung derselben und das Studium

deren Verbreitung in Ackerböden, welche in verschiedenen geologischen Formationen entstanden sind.

Der Ursprung des Pentosans im Boden liegt in den Bacterien und den Pflanzen überhaupt. Das Pentosan (eventuell Furfurosan) ist in den Pflanzen ungemein verbreitet und entsteht als secundäres Product aus der Saccharose und dem Hexosanen. Im Pflanzenorganismus existiren nicht bloss Pentosane und Pentosen, sondern Pentosan-Hexane, ferner Hemicellulosen, Lignocellulosen und überhaupt der Cellulose sehr nahe stehende Stoffe, welche auch Furfurol erzeugen. Ich wende ausdrücklich statt der Worte Pentosane und Pentosen die kurze Bezeichnung »Furfuroid« an, ähnlich wie Gross und Bewan,[1] weil es unmöglich ist, bloss aus dem gefundenen Furfurol die Pentosane und Pentosen zu berechnen, da es bekannt ist, dass es gewisse organische Verbindungen gibt, welche unter den Kautelen, nach welchen das Furfurol bestimmt wird, dasselbe ebenfalls bilden, wenn auch nur in geringem Maasse.

Zur quantitativen Furfurolbestimmung wurde die Phenylhydrazin-Methode gemäss der von Tollens und dessen Schülern de Chalmot,[2] Flint,[3] Mann[4] und Günther[5] ausgearbeiteten Anweisung nicht verwendet, das Furfurolhydrazon daher nicht gewogen, sondern wir benützten zu diesem Zwecke eine neuere, von Councler[6] erfundene und ebenfalls von Tollens und Krüger[7] abgeänderte Methode.

[1] Chem. News, 1894, Bd. 10. — Ferner: Über einige chemische Vorgänge in der Gerstenpflanze. Von C. F. Gross, E. J. Bewan und Claus Smith. B. B. 1895, S. 2604.

[2] Dissertation. Versuchsstat., 39, S. 433. — B. B. 24, S. 3583.

[3] Dissertation. Versuchsstat., 42, S. 382.

[4] Dissertation. Mann und Tollens, Zeitschrift des Vereines für die Rübenzucker-Industrie d. D. R., Bd. 44, 1894, 426.

[5] Dissertation. Versuchsstat. 39, S. 433.

[6] Chemikerzeitung, 1894, 18, N. 51, 8, 966.

[7] Vergleich der Pentosen-Bestimmungsmethoden vermittelst Phenylhydrazin und Phloroglucin und einigen Studien über Furfurolbildung. Dissertation. Max Krüger. Göttingen 1895. — Zeitschrift des Vereines für Rübenzucker-Industrie d. D. R. 1895, Bd. 44 enthält eine ausführliche Beschreibung der ganzen

Die Councler'sche Methode basirt auf der Condensationsfähigkeit des Furfurols mit Phloroglucin bei Anwesenheit der Chlorwasserstoffsäure.

Krüger und Tollens haben die von Councler vorgeschlagene Methode geprüft und auf Grund einer ganzen Reihe von Vergleichsversuchen festgestellt, dass dieselbe den langsamen Phenylhydrazin-Modus bei der quantitativen Furfurolbestimmung vollauf ersetzen kann.

Welbel und Zeisel[1] wenden gegen die Councler'sche Methode ein, dass einestheils das Phloroglucin kein absolut reines Präparat sei, sondern regelmässig Diresorcin enthalte, anderentheils aber das Condensationsproduct beim Trocknen an der Luft oxydire und in Folge dessen die gewonnenen Zahlen nicht richtig seien. Der erste Einwand ist gegenwärtig gegenstandslos geworden, da reines Phloroglucin im Handel bereits erhältlich ist, und sollte dasselbe dennoch einen geringen Diresorcinantheil enthalten, der mit Hilfe der bekannten Skraup'schen Methode nachweisbar ist, so bedeutet dies doch keinen Nachtheil für die Analyse. Das nach der Skraup'schen Methode[2] gereinigte Phloroglucin ergibt dieselben Zahlen wie das reine (purissimum) Präparat von Merck, in welchem ich Diresorcin oft constatirt habe.

Was den zweiten Einwand betrifft, so ist derselbe im Principe wohl stichhältig, da das Phloroglucid beim Trocknen an der Luft in der That oxydirt, doch ist die Oxydation so unbedeutend (die Gewichtszunahme beträgt nur 1—2⁰/₀), dass dieselbe bei einer Menge von 0·2—0·5 *g* Phloroglucid die gewonnenen analytischen Daten fast gar nicht beeinflusst. Man muss ja dabei auch erwägen, dass die Methode selbst keine derart präcise ist, um stets absolut verlässliche und genaue Daten zu ergeben. Selbst Tollens gesteht, dass ein Pentosane oder Pentosen enthaltender Stoff keine constante Furfurolmenge liefern.

Operation sammt Tabellen in einer von B. Tollens und M. Krüger herrührenden Abhandlung.

[1] Diese Sitzungsber., 104 (1895). — Monatshefte für Chemie, 1895.

[2] Monatshefte für Chemie, 10, 724.

Der Ansicht Krüger's,[1] Düring's[2] und Stift's,[3] welche behaupten, dass der von Welbel und Zeisel gemachte Einwand nicht richtig sei, kann ich nicht zustimmen, und zwar aus dem Grunde, weil es an den nöthigen Vergleichsbeweisen bezüglich des Trocknens des Furfurolphloroglucids in der Wasserstoffatmosphäre mangelt. E. Votoček[4] hat übrigens den Befund Welbel's und Zeisel's beim Condensationsproduct des Methylfurols mit Phloroglucin auch bestätigt.

Zur Analyse wurde immer so viel Stoff genommen, um etwa 0·2—0·5 *g* Phloroglucid zu erhalten.[5] Das Durchschütteln fand im Altmann'schen Apparat, der mit Hilfe eines Gasmotors betrieben wurde, statt. Im Sonstigen wurden alle von Tollens und Krüger bei dieser Methode vorgeschriebenen Weisungen genau eingehalten. Von dem gewogenen Phloroglucid berechne ich nur das Furfurol, wobei ich darauf Rücksicht nehme, dass dasselbe hauptsächlich aus (im Boden enthaltenen) Pentosanen entstanden ist.

1. Über die Entstehung und die Verbreitung der Furfuroide im Boden.

Durch den Einfluss der Atmosphäre verwittern die Felsarten allmälig und erzeugen auf diese Weise Nährstoffe für die ersten Pionniere der künftigen Flora. Es sind dies in erster Reihe die *Chlorophyceae*, welche sich an den verwitterten Theilen der Gesteine festsetzen, wo es genügende Feuchtigkeit gibt. Hier werden ihnen auch die löslichen anorganischen Nährstoffe zugänglich gemacht. Die Algen assimiliren die Kohlensäure aus der Luft und bilden neue organische Substanzen. Die Chlorophyceen leben in Symbiose mit Bacterien, welche an der abgestorbenen Algenflora ein genügendes Material für ihre

[1] Vergleich der Pentosen-Bestimmungsmethoden. Dissertation, 1895.

[2] Österr.-ung. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirthschaft, 1897, IV. Heft.

[3] Journal für Landwirthschaft, 1897.

[4] Berl. Ber., X, 1897.

[5] Wenn weniger gefunden wurde, so wurde die Analyse bei Anwendung eines grösseren Materialquantums wiederholt.

weitere Entwicklung finden. Untersucht man die Algen, so findet man, dass sie Furfuroide in bedeutender Menge enthalten.

Der an Felsen stark verbreitete *Pleurococcus vulgaris* enthält in seiner Trockensubstanz 2·23% Furfurol (was umgerechnet 3·43% Pentosan entspricht).

Nostoc enthält in der Trockensubstanz 3·66% Furfurol (5·06% Pentosan).

Interessante Ergebnisse wurden bei der Analyse von Fucaceen gewonnen, welche ich im vorigen Jahre gemeinsam mit dem Herrn Prof. Reinke bei botanischen Excursionen in der Kieler Bucht gesammelt hatte. Zum Zwecke des Vergleiches der Palmellaceen mit den Fucaceen lasse ich hier eine kurze Übersicht meiner diesbezüglichen Untersuchungen folgen.[1] Es enthielten an Furfurol in der Trockensubstanz:

Laminaria saccharina	4·23%
Fucus vesiculosus	3·84
Fastigiaria forcellata	1·60

Es sei hier bemerkt, dass in den angegebenen Zahlen auch das Methylfurol enthalten ist, da aus dem *Fucus* Fucose ($C_6H_{12}O_5$) und aus *Laminaria* Rhamnose ($C_6H_{11}O_5 + H_2O$) isolirt wurden.

Aus den obigen Zahlen geht hervor, dass den grössten Furfurolgehalt die *Laminaria* in dem laubartigen Theil des Thallus aufweist.

Nicht minder wichtig war es zu erfahren, welche Furfurolmenge die im Boden enthaltenen Bacterien liefern. Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass die Algen und Bakterien die ersten Producenten der Furfuroide (der Pentosen und Pentosane)

[1] Es sei hier die bemerkenswerthe Erscheinung hervorgehoben, dass die Meeralgen keine Stärke enthalten. Ob der grosse Chlorgehalt des Meerwassers etwa eine rasche Transformation der Stärke in andere Kohlenhydrate bewirkt, bildet heute noch ein Problem. Es ist aber Factum, dass die Meeralgen eine ganze Reihe von bisher nicht bekannten Kohlenhydraten enthalten und dass der Verlauf der Vitalprocesse in ihrem Organismus in einer anderen Weise vor sich geht, als bei unseren Algen.

im Boden sind. Die Verbreitung geschieht im Boden zwar langsam, nichtsdestoweniger erreicht sie im Laufe der Zeit wohl eine beachtenswerthe Ausdehnung.

In meinen Versuchen habe ich den im Boden stark verbreiteten *Bacillus mesentericus* (Flügge) verwendet. Zur Analyse wurden reine Culturen des *Bacillus* von der Kartoffeloberfläche genommen. Es wurden 2·277 *g* abgewogen und bei 105° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet, worauf das Furfurol bestimmt wurde. Man fand 1·69% Furfurol (2·31% Pentosan).

Diese Ziffer ist sehr interessant, da sie beweist, dass die Furfuroide in den Mikroben in genügender Menge vertreten sind. Eine interessante Erscheinung liegt auch darin, dass diese Furfuroide fast insgesammt in den Wasserextract übergehen; dieser hat bei den Bacterien 1·38% Furfurol ergeben. Aus diesem Grunde war es daher auch nicht möglich, bei der Isolirung der reinen Mikrobencultur die von Dreyfuss empfohlene Methode anzuwenden.

An Stellen, wo Algen mit den Mikroben wuchern, setzen sich häufig Flechten an, welche gemeinsam mit den Algen nach ihrem Absterben die erste Grundlage zum fruchtbaren Boden bilden. Die Gallertalgen (Palmellaceen) assimiliren die Kohlensäure und anorganische Nährstoffe und bilden dann Moleküle der Kohlenhydrate, Albuminate, des Lecithins, des Nucleons etc., welche alsdann zur Bildung der lebenden Substanz der Flechten dienen. In den Flechten kann das Furfurol immer nachgewiesen werden.

Die stark verbreitete *Parmelia* enthält in der Trockensubstanz 2·39% Furfurol (3·46% Pentosan).

Lecanora enthält in der Trockensubstanz 2·24% Furfurol (3·43% Pentosan).

Interessant ist das Studium der biologischen Verhältnisse der Flechten an Felsen und die Bestimmung der Zusammensetzung des ersten Mediums für die Entwicklung der höheren Flora. Ich beobachtete den ganzen Verlauf an dem Gneiss des »Weinberges« bei Kauřim in Böhmen. An der Felsenoberfläche befanden sich zahlreiche Lecanoren, unter welchen bereits dünne, mit einer Unzahl von Algen besetzte Erdtheilchen

bemerkt werden konnten. Das erste rege Leben der Mikrobenorganismen im Boden! Die Erdschichte wurde sorgfältig abgenommen und dann unter Einhaltung aller bekannten bacteriologischen Kautelen die Zahl der vegetativen Keime constatirt.

Auf die Trockensubstanz umgerechnet, wurden schon in diesem ersten Producte in 1 *g* 273.000 vegetative Keime gefunden. Der Boden enthielt Furfuroide (vielleicht Pentosan?): der Furfurolgehalt wurde mit 0·32% bestimmt.

Nach dem Absterben der Flechten nimmt die Furfuroidenmenge bedeutend zu und dieselben stellen auch schon einen bedeutungsvollen und wesentlichen Theil der organischen Bodenbestandtheile dar. Den Furfuroiden obliegt eine wichtige Aufgabe im Boden, wie wir später sehen werden.

An den verwitterten Gesteinstheilen oder an dem Boden der verwitterten Flechten setzen sich die Moose an. Es ist bekannt, wie diese die Feuchtigkeit aus der Luft absorbiren und wie sie mit ihrer Decke auf das üppige Leben der Mikroorganismen in den verwitterten Felsentheilen einwirken. Die vitalen Processe der Moose kennzeichnen sich durch die bedeutende Assimilation anorganischer Nährstoffe und durch die Resorption organischer Verbindungen. Die Moose weisen einen grossen Furfurolgehalt auf und gehören zu den besten Furfuroiden-Erzeugern im Boden, da die im Boden verbreiteten Furfuroide ihren Ursprung zum grossen Theile der Thätigkeit der grossen Gruppe von Moosen verdanken dürften.

Von der auf Felsen und in dem Waldboden verbreiteten Vegetation der Moose wurden zwei Species untersucht, und zwar *Hypnum Schreberi* und *Dicranum*.[1]

Hypnum Schreberi enthält 3·50% Furfurol (6·19% Pentosan), *Dicranum* 5·80% Furfurol (10·78% Pentosan).

Unterhalb des Mooses findet man schon einen Boden, der sich durch ein reges Mikrobenleben kennzeichnet und gegenüber dem Urboden eine bedeutend grössere Menge organischer Stoffe aufweist. Solcher sorgfältig gesammelter Boden enthielt

[1] Ich bemerke, dass alle hier angeführten Algen und Moose in dem Stadium ihrer vollen Entwicklung untersucht wurden.

unter dem Moose *Dicranum* in 1 *g* 830.000 vegetative Mikrobenkeime und bereits 0·67% Furfurol!

Von besonderem Interesse für uns sind die Torfmoose. Die mit Rücksicht auf den Gegenstand dieser unserer Abhandlung interessanteste Pflanzengruppe ist ein Theil der Torfmoose (Sphagnaceen), welcher zur Bildung des Torf- und Moorbodens wesentlich beigetragen hat. Das *Sphagnum* weist einen grossen Furfuroidengehalt auf. So z. B. enthält die sehr verbreitete Art *Sphagnum cymbifolium* 8·41% Furfurol (15·44% Pentosan).

In den weiteren bedeutungsvollen Pflanzengruppen, welche zur Bildung des Torfbodens beigetragen haben, gehören von den Kryptogamen gewisse Farne (*Filices*), die Schachtelhalme (Equisetaceen) und die Bärlappe (Lycopodiaceen).

Filices:

Pteris aquilina enthält in der Trockensubstanz 10·24% Furfurol (18·8% Pentosan).

Aspidium enthält in seiner Trockensubstanz 10·4% Furfurol (19·1% Pentosan).

Equisetaceae:

Equisetum arvense (steriler Stengel) enthält in der Trockensubstanz 11·45% Furfurol (21·1% Pentosan).

Lycopodinae:

Lycopodium sp. enthält in der Trockensubstanz 13·20% Furfurol (24·6% Pentosan).

Aus den angeführten Daten geht hervor, dass alle die drei angeführten Gruppen ungemein reich an Furfuroiden sind. Insbesondere interessant ist hier das *Equisetum*, deren fertile Stengel 18%, deren sterile Stengel aber nur 11% Furfurol enthielten.

Von den Phanerogamen, und zwar aus der Gruppe der Gräser, seien hier die Riedgräser (*Carex*) erwähnt, von welchen *Carex acuta* untersucht wurde; dasselbe enthielt in dem oberirdischen Theile (vor der Blüthe) in der Trockensubstanz 10·6% Furfurol (19·6% Pentosan) und in der Wurzel 14·4% Furfurol (26·5% Pentosan).

Von den auf Moosen verbreiteten Ericaceen untersuchte ich *Calluna vulgaris*, deren oberirdischer Theil (in der Blüthen-

periode) in der Trockensubstanz 9·4% Furfurol (17·3% Pentosan) enthielt; der Furfurolgehalt der Wurzel betrug 12·6% (23·2% Pentosan). —

Die Torfbildung besteht in chemischer Zersetzung organischer Stoffe, welche durch die Mikrobenthätigkeit hervorgerufen wird und immer durch gewaltige Pflanzenlager, dann durch Einwirkung des stehenden Wassers bei niedrigerer Temperatur und ungenügendem Luftzutritt bedingt ist.

Der Humifications- und Ulmificationsprocess ist ein Act der Dehydratation der Kohlenhydrate, wobei die thunlichste Ausscheidung des Kohlenstoffes in elementarer Form resultirt.

Die stete Carbonisation in den Molekülgruppen der Pflanzenmaterie besteht somit in der Dehydratation der Kohlenhydrate, welche mit der untergeordneten Ausscheidung des Kohlenstoffdioxyds verbunden ist. Die Studien über die Bedeutung der Furfuroide in diesem Processe sind recht interessant und man wolle nunmehr ihre Menge im Torf in den verschiedenen Stadien der Humification betrachten.

Die Untersuchungen des von Milčic bei Sadska (Böhmen) stammenden Torfs ergaben in der Trockensubstanz:

In der Tiefe von 10 *cm*	8·7 %	Furfurol	(17·4 % Pentosan)
» » » 30	8·75	»	(17·5 »)
» » » 50	5·2	»	(10·38 »)
» » » 100	2·9	»	(5·34 »)
» » » 160	1·2	»	(2·15 »)
» » » 200	0·89	»	(1·60 »).

Zu analogen Ergebnissen gelangten auch H. v. Feilitzen und B. Tollens, wie aus deren neuesten Publication in den »Berliner Berichten«[1] hervorgeht. Es sei hier bemerkt, dass die obigen Torfuntersuchungen im April v. J. stattgefunden haben.

Je tiefer gelegene Torfschicht man untersucht, desto weniger Furfurol findet man; in der Tiefe von 2 *m* findet man bloss 10·23% des gesammten Furfurolgehaltes der oberen

[1] Über den Gehalt des Torfes an pentosan- und furfurolgebenden Stoffen und anderen Kohlenhydraten. B. B. 30, S. 2571.

Schichte. So zersetzen sich die resistenten Stoffe wie die Pentosane bei vorgeschrittener Carbonisation des Torfes, dass nur 10% des gesammten Furfurols in der unteren Schichte übrig bleiben!

Eine nicht minder interessante Erscheinung kann bei der Humusbildung in den Wäldern aus den abgefallenen Blättern und der abgestorbenen niederen Flora beobachtet werden. In der oberen Schichte des Waldbodens wurden 3·27%, in der Tiefe von 50 *cm* aber nur 0·83% Furfurol constatirt.

Der zerstörte und theilweise auch carbonisirte Torf oder Moor dient zur Bildung der Humusböden.

Humusböden aus der Umgebung von Dymokur, Königstadtl, Poděbrad und anderwärts liefern ein interessantes Bild darüber, welch grossen Einfluss die Carbonisation auf die Zersetzung der organischen Materie ausgeübt hat. Die schwarzen Humusböden bei Libňoves enthalten in der Tiefe von 10 *cm* bis 40 *cm* in der Trockensubstanz durchschnittlich 0·75% Furfurol (1·2% Pentosan).

Die Kladnoer Steinkohle enthält nicht einmal Spuren von Furfurol; die Duxer Braunkohle verräth schon ihren Furfurolgehalt. Reste von fossilem Holz, welche mir vom Adjuncten des Museums des Königreiches Böhmen, Herrn Prof. Bayer, übergeben wurden, enthielten eine wägbare Furfurolmenge, welche durch Erwärmen mit HCl von 1·06 specifischem Gewicht gewonnen wurde.

Von manchen Seiten wurde behauptet — ich erwähne hier z. B. den bekannten Torfforscher J. Früh —, dass in den Torfböden keine Bacterien vorkommen, welche den Zersetzungsprocess herbeiführen würden. Diese Ansicht ist durchaus unrichtig. Nach unserer Untersuchung enthalten die oberen Torfschichten in 1 *g* 1,350.000 vegetative Keime, in einer Tiefe von 1·5 *m* aber nur 22.000 vegetative Keime in 1 *g* Torfboden. Die Bacterien, deren morphologische Kennzeichen ich in einer späteren Arbeit anführen werde, sind jedoch in den unteren Schichten von ganz anderem biologischen Charakter als in den oberen. In der Wirklichkeit zersetzen sie aber nicht nur die Cellulose, sondern auch die Pentosen. Es sind besondere Bacterienspecies, welche auch die Nitrate des Moor-

bodens zersetzen. Dadurch wird das interessante Factum aufgeklärt, warum in den Moorböden keine Nitrate vorkommen.

Zweck meiner zweiten Arbeit wird es sein, zu beweisen, erstens, dass im Boden, welcher viele Pentosane und Pentosen enthält, Bacterien leben, welche sich durch die Eigenschaft kennzeichnen, dass sie den Stickstoff aus der Luft assimiliren und ihn im Boden accumuliren; zweitens, dass namentlich jene Bacterien, welche den elementaren Stickstoff aus der Luft assimiliren, bei Gegenwart von Pentosen im Nährsubstrat vortrefflich vegetiren. Es ist dies eine charakteristische Erscheinung, dass alle Bacterien, welche den elementaren Stickstoff aus der Luft assimiliren, in ihrem Nährmedium einer grossen Menge Kohlenhydrate zur Bildung lebender Substanzen benöthigen. Unter diesen Kohlenhydraten nehmen die Pentosen den ersten Platz ein.

Resumé.

Die Hauptresultate lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Die vorliegende Arbeit bringt zahlreiche Daten über den quantitativen Gehalt von Furfuroiden (auf Pentosan berechnet) in verschiedenen Bacterien, Algen, Flechten, Moosen und in höher organisirten Pflanzen, welche zur Bildung organischer Substanzen im Boden beitragen.

2. Zu den resistenten organischen, im Boden verbreiteten Substanzen gehören in erster Reihe die Furfuroide.

3. Die Furfuroide muss man als ein vorzügliches Nährsubstrat (aus der Classe der Kohlenhydrate) für gewisse Bacterienarten betrachten, welchen im Boden eine wichtige biologische Aufgabe zugewiesen ist.